

## Efek Ekstrak Ampas Seduhan Bubuk Kopi Dalam Menghambat Produksi Malondialdehid Pada Isolat Monosit Perifer Manusia yang Distimuli Dengan Eksotoksin *Streptococcus mutans*

(The Effect of Spent Coffee Ground Extract on Inhibiting Malondialdehyde Production in Human Peripheral Monocyte Isolates Stimulated by *Streptococcus mutans* Exotoxin)

Raffi Hanif Fawwazi<sup>1</sup>, Happy Harmono<sup>2</sup>, I Dewa Ayu Susilawati<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

<sup>2</sup> Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

### Abstrak

Monosit sebagai sel imun non spesifik memberikan respon dini terhadap patogen dan benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Pada saat terpapar patogen maupun benda asing, monosit mengalami kenaikan jumlah radikal bebas. Radikal bebas mengaktifasi enzim fosfolipase yang memecah membran fosfolipid menjadi fosfat, glyserol dan asam lemak. Asam lemak tak jenuh (PUFAs) bereaksi dengan radikal bebas mengalami peroksidasi menghasilkan Malondialdehid (MDA). Dibutuhkan senyawa antioksidan yang dapat meredam radikal bebas berlebih dalam tubuh. Ampas kopi sebagai limbah padat sisa konsumsi produk kopi olahan tidak digunakan dan dibuang diduga dapat menjadi bahan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antioksidan ampas seduhan bubuk kopi terhadap nilai MDA pada monosit yang distimuli dengan eksotoksin *S. mutans* (In Vitro). Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental *post test only control group design*. Obyek penelitian ini adalah monosit darah perifer manusia, yang diisolasi dengan metode *Gradient Density*. Perlakuan dilakukan dengan isolat monosit diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dengan tiga konsentrasi berbeda yaitu 0,25 mg/ml; 0,50 mg/ml; dan 0,75 mg/ml setelah itu dipapar dengan eksotoksin *S. mutans* (In Vitro) dan terakhir dihitung kadar MDA menggunakan metode TBARS pada spektrofotometer UV-Vis. Hasil kadar MDA dianalisis menggunakan Anova dan LSD. Data kadar MDA menunjukkan signifikansi ( $p < 0,05$ ) dengan rata-rata kadar MDA pada kelompok Kontrol Negatif 1,49 µg/ml; Kontrol Positif 10,62 µg/ml; Perlakuan Satu 8,15 µg/ml; Perlakuan Dua 6,59 µg/ml; dan Perlakuan Tiga 4,69 µg/ml. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dapat menurunkan kadar MDA pada Monosit yang terpapar eksotoksin *S. mutans*.

**Kata kunci:** Ampas Kopi, Antioksidan, Monosit, Malondialdehid

### Abstract

Monocytes as non-specific immune cells provide an early response to pathogens and foreign objects that enter the body. When exposed to pathogens or foreign objects, monocytes experience an increase in the number of free radicals. Free radicals activate phospholipase enzymes that break down membrane phospholipids into phosphate, glycerol and fatty acids. Unsaturated fatty acids (PUFAs) react with free radicals to undergo peroxidation to produce malondialdehyde (MDA). It takes antioxidant compounds that can reduce excess free radicals in the body. Coffee grounds as solid waste from the consumption of processed coffee products are not used and disposed of, it is suspected that they can be used as antioxidants. This study aims to determine the effect of coffee grounds steeping antioxidants on the profile of MDA levels in monocytes stimulated by the *S. mutans* exotoxin (In Vitro). Research was done in experimental *post test only control group design*. The object of this study was human peripheral blood monocytes, which were isolated by the *Gradient Density* method. Following *in vitro* exposure to the exotoxin *S. mutans*, the monocyte isolates were subjected to treatment with brewed coffee grounds extract at three different concentrations (0.25 mg/ml, 0.50 mg/ml, and 0.75 mg/ml). The MDA levels were subsequently determined by employing the TBARS method on a UV-Vis spectrophotometer. The results of MDA levels were analyzed using One Way Anova and LSD. The MDA level data showed significance ( $p < 0.05$ ) with the average MDA level in the Negative Control group 1.49 µg/ml; Positive Control 10.62 µg/ml; T1 8.15 µg/ml; T2 6.59 µg/ml; and T3 4.69 µg/ml. It can be concluded that the extract of brewed coffee grounds can reducing MDA levels in monocytes exposed to the exotoxin of *S. mutans*.

**Keywords:** Antioxidants, Coffee Grounds, Monocytes, Malondialdehyde

**Korespondensi (Correspondence)** : Happy Harmono, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember. Jl.Kalimantan No.37, Tegalboto, Jember 68121. Email: [hp\\_harmono.fkg@unej.ac.id](mailto:hp_harmono.fkg@unej.ac.id)

Monosit sebagai salah satu sel imun non spesifik yang berfungsi memberikan respon dini terhadap patogen dan menginduksi respon imun non spesifik. Monosit jika terjadi invasi dari benda asing masuk ke dalam jaringan tubuh, sel ini akan berperan sebagai prekursor untuk makrofag. Sel ini akan mencerna dan membaca eksotoksin benda asing tersebut (Bratawidjaja, 2004; Kurniawati, 2018). Benda asing yang menginvasi jaringan mengakibatkan kenaikan jumlah radikal bebas dan merangsang aktivasi enzim fosfolipase pada membran sel yang akan memecah membran fosfolipid menjadi fosfat, glyserol dan asam lemak. Asam lemak yang terpecah salah satunya bersifat tak jenuh atau biasa disebut dengan PUFAs (Andriyono, 2019; Prabowo, 2021).

*Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFAs) pada proses oksidasi lipid (Peroksidasi)

menghasilkan salah satu hasil produk senyawa aldehid reaktif yaitu Malondialdehid. Peroksidasi PUFAs terjadi karena proses stress oksidatif akibat adanya radikal bebas. Proses peroksidasi ini terjadi karena berinteraksinya antara radikal bebas dengan salah satu jenis PUFAs yaitu asam arakidonat (Ayala, 2014; Muliando, 2020).

Malondialdehid (MDA) sebagai produk dekomposisi *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFAs) peroksidasi dapat menjadi sebuah analisis tidak langsung atau biomarker terhadap radikal bebas dan jumlahnya yang terbentuk. Malondialdehid terdapat hampir di semua cairan biologis tubuh dari yang infeksius hingga yang non infeksius sehingga mudah diambil dan digunakan sebagai biomarker. Malondialdehid dapat menjadi sebuah biomarker terjadinya stress oksidatif pada tubuh karena sifatnya yang sesuai dengan tingkat

stress oksidatif dan kadarnya dapat diukur secara akurat (Muliando, 2020).

Radikal bebas superoksida salah satu jenis *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh proses biologis metabolik normal sel dan dibutuhkan dalam proses fisiologis tubuh dalam jumlah yang sedikit. Proses fisiologis dapat berupa sistem kekebalan tubuh, antibakteri dan transduksi sinyal (Behr et al., 2012; Widowati, 2005). ROS normalnya terdapat dalam jumlah kecil di dalam sel dan berperan pada proses signaling dan homeostasis. Keseimbangan antara siklus pembentukan dan inaktivasi ROS dipertahankan oleh sistem enzimatis dan non enzimatis endogenus. Produksi ROS yang berlebihan bila tidak diimbangi dengan sistem antioksidan yang memadai menyebabkan terjadinya keadaan prooksidatif yang mengarah ke kondisi stres oksidatif, yang berperan pada patogenesis berbagai penyakit (Susilawati, 2021). Peningkatan jumlah radikal bebas pada tubuh yang berlebihan menyebabkan *stress oksidatif* dan menyebabkan destruksi jaringan namun dapat dicegah dengan pemberian senyawa antioksidan (Werddhasari, 2014).

Senyawa antioksidan dapat memberi elektron sehingga dapat meredam radikal bebas dan ROS (Widowati, 2005). Antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen dapat berupa enzim-enzim yang bersifat antioksidan (mencegah oksidasi radikal bebas terhadap molekul lain sekitarnya) seperti : Superoksida Dismutase (SOD), Katalase (CAT) dan Glutathione Peroksidase (Gpx). Antioksidan eksogen berupa antioksidan yang berasal dari luar tubuh/makanan. Indonesia memiliki banyak bahan alami aktif yang berpotensi menjadi antioksidan (Werddhasari, 2014).

Kopi memiliki kandungan bahan seperti asam klorogenat, tanin, saponin, dan polifenol sehingga mempunyai potensi menjadi antioksidan yang baik bagi tubuh (Dias et al., 2015). Produk kopi olahan salah satunya produk kopi bubuk diolah dengan berbagai metode salah satunya penyeduhan agar dapat dikonsumsi, setelah dikonsumsi sering berupa ampas masih bersisa menjadi limbah tidak digunakan dan dibuang. Walaupun secara umum pengolahan bahan makanan dan minuman dapat mengurangi kandungan bahan antioksidan, namun khasiat dari kandungan bahan tersebut masih dapat dirasakan oleh tubuh (Limantara, 2019; Silvia, 2016).

Pada umumnya jenis penyakit inflamasi kronis infeksi bakterial yang melibatkan aktivitas monosit terstimulasi menjadi makrofag sebagai sel inflamasi sering ditemui. Infeksi bakteri ini akan menstimulasi monosit untuk melakukan mekanisme pertahanan dan menghasilkan radikal bebas dalam jumlah yang cukup besar sehingga menyebabkan *stress oxydative* (Miyajima et al., 2014).

Oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana efek ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dalam menghambat produksi malondialdehid (MDA) sebagai biomarker

terhadap *stress oksidatif* akibat ROS pada isolat monosit yang distimuli dengan eksotoksin *S.mutans* sehingga dapat dimanfaatkan dengan baik dikemudian hari.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories*. Objek penelitian ini adalah isolat monosit vena perifer pada manusia yang diambil dari orang sehat yang tidak merokok dan tidak memiliki riwayat penyakit atau kelainan pada darah sesuai dengan hasil anamnesa dan *Vital Sign* normal lalu diberi perlakuan terhadap ekstrak ampas seduhan bubuk kopi. Rancangan penelitian ini adalah tipe *the post test only control group design*, yaitu melakukan penghitungan nilai malondialdehid (MDA) pada monosit setelah perlakuan terhadap ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol.

### Bahan

Bahan yang digunakan antara lain: Darah vena kapiler, Sigma *Lymphoprep 1077*, *S.mutans*, Bubuk kopi campuran robusta dan arabika produksi Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember, Ampas bubuk kopi, Sigma BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*), Sigma HBSS (*Hank's Balanced Salt Solution*), Sigma RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute Media*).

### Metode Kerja

#### a. Pembuatan Ekstrak Ampas Seduhan Bubuk Kopi

Pembuatan ekstrak ampas seduhan kopi dimulai dengan menyeduh bubuk kopi perbandingan 1:18 sebanyak 250gr bubuk kopi diseduh dalam 4.000 ml air panas dengan suhu 95°C. Kemudian dibiarkan selama 1 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan untuk mendapatkan ampas kopi sebanyak 240gr. Ampas bubuk kopi dihitung berat awal lalu dimasukkan dalam oven dengan suhu 40°C selama 24 jam. Setelah itu diukur berat awal dan akhir lalu dibandingkan prosentase berat awal dan akhir, apabila sudah tidak ada perbedaan berat yang signifikan dapat disimpulkan bahwa ampas sudah dalam keadaan kering. Namun apabila masih ada perbedaan berat yang signifikan dapat kembali dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama 24 jam. Setelah itu ampas dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:6 sebanyak 1200ml dan dilakukan pengadukan 3x sehari selama 2 hari. Kemudian di filtrasi sehingga menghasilkan filtrat ampas bubuk kopi. Filtrat ampas bubuk kopi di evaporasi pada suhu 60°C hingga seluruh pelarut menguap sempurna dan dihasilkan ekstrak ampas seduhan bubuk kopi yang akan dibedakan menjadi tiga konsentrasi rendah 0,25mg/ml, konsentrasi sedang 0,50mg/ml, dan konsentrasi tinggi 0,75mg/ml melalui metode pengenceran (Mangiwa, 2016).

#### b. Persiapan Eksotoksin *S.mutans*

Ambil 2 ml BHI-B, kemudian tambahkan 3 ose koloni bakteri. Campurkan, lalu inkubasi pada

suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Lakukan Pengamatan setelah itu lakukan pengecatan gram bakteri. Pisahkan bakteri dengan media menggunakan *filter syringe* 0.2 µm. Hasil penyaringan mendapatkan supernatant yang mengandung eksotoksin *S. mutans*. Supernatant diuji kandungan eksotoksin menggunakan uji SDS-PAGE untuk mengetahui berat molekul protein nonspesifik.

### c. Isolasi Monosit

Ambil 6 ml darah vena masukkan pada empat tabung heparin campur sampai merata. Buat darah diluent dengan darah diencerkan menggunakan larutan fisiologi (RPMI) dengan perbandingan 1 : 1, campur sampai homogen. Masukkan diluent darah tersebut pada tabung yang sudah diisi 3 ml larutan *Lymphoprep* dengan perbandingan *lymphoprep* dengan diluent darah adalah 1 : 2. Masukkan melalui dinding tabung secara perlahan, larutan *Lymphoprep* jangan sampai pecah. Centrifuge pada kecepatan 900g selama 20 menit pada suhu 20°C. Terbentuk 4 lapisan (Plasma, Mononuclear, *Lymphoprep*, Polymorfonuclear eritrosit). Pipet Lapisan ke 2 Mononuclear (cincin kabut) secara hati-hati, masukkan pada tabung *well plate* lalu ukur jumlah sel pada kamar hitung. Campur *Mononuclear* dengan HBSS menggunakan perbandingan 1:10 pada *deek glass*. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit lalu amati apakah terdapat kerusakan sel atau tidak. Tambahkan 1ml media kultur (RPMI) pada *deek glass* lalu ikubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Terakhir cuci dengan 1ml media kultur (RPMI) diulang sebanyak 3 kali pencucian. Didapati isolat sel monosit pada *deek glass*.

### d. Perlakuan Penelitian

Perlakuan isolat monosit yang diberi dengan ekstrak ampas bubuk kopi dan dipapar dengan eksotoksin bakteri *S. mutans*. Isolasi monosit kelompok penelitian dibagi menjadi 4 yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif (K-) Isolat monosit + Media (RPMI) 1000µl
2. Kelompok kontrol positif (K+) Isolat monosit + eksotoksin bakteri *S. mutans* 100µl + Media (RPMI) 900µl
3. Kelompok perlakuan 1 (P1) Isolat monosit + ekstrak ampas bubuk kopi (Konsentrasi 0,25mg/ml) 100µl + eksotoksin *S. mutans* 100µl + Media (RPMI) 800µl
4. Kelompok perlakuan 2 (P2) Isolat monosit + ekstrak ampas bubuk kopi (konsentrasi 0,50mg/ml) 100µl + eksotoksin *S. mutans* 100µl + Media (RPMI) 800µl
5. Kelompok perlakuan 3 (P3) Isolat monosit + ekstrak ampas bubuk kopi (konsentrasi 0,75mg/ml) 100µl + eksotoksin *S. mutans* 100µl + Media (RPMI) 800µl

### e. Uji TBArS Kadar MDA

Kelompok K+, K-, P1, P2, dan P3 sebanyak 50 µL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL aquadest, 100 µL TCA 20%, 250 µL HCl 1 N dan 100 µL NaTBA 1%, setiap

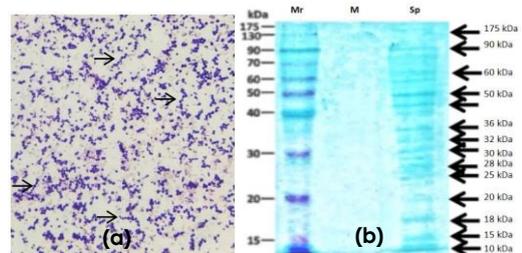
penambahan 2 reagen dihomogenkan dengan vortex. Campuran tersebut dipanaskan dalam air suhu 100°C selama 30 menit dan didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit. Campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 28 3500 rpm selama 10 menit dan hasil supernatannya dipindahkan ke dalam kuwet. Sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

### f. Pembuatan Preparat Mikroskopis

Sebagai data pendukung disajikan gambaran mikroskopis pada semua kelompok penelitian. Preparat mikroskopis disiapkan dengan pengecatan giemsa dengan perbesaran 400 kali dan 1000 kali.

## HASIL PENELITIAN

Hasil identifikasi bakteri melalui pewarnaan Gram dengan perbesaran 400 kali pada gambar 1.a menunjukkan bahwa bakteri adalah Gram Positif karena bewarna ungu homogen dan berbentuk kokus yang tersusun berderet (panah hitam pada gambar 1.a) sesuai dengan teori dari morfologi *S. mutans*. Eksotoksin *S. mutans* dilakukan pembacaan *Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) pada gambar 1.b menunjukkan protein yang dikarakterisasi berdasarkan pemisahan berat molekulnya dengan satuan Kilo Dalton (kDa). Pada supernatant metabolit ekstraseluler (SP) terdapat kurang lebih ±18 pita- pita warna (panah hitam pada gambar 1.b) yang menandakan adanya kandungan molekul protein nonspesifik sesuai dengan marker (Mr). Pada media BHIB (M) tidak ditemukan pita-pita warna yang menandakan pada media tidak terdapat eksotoksin protein nonspesifik.



**Gambar 1.** Identifikasi bakteri, (a) Hasil pengecatan Gram *S. mutans* dan (b) Hasil identifikasi SDS-PAGE.

Data hasil pengukuran nilai malondialdehid (MDA) isolat monosit diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* diperoleh nilai signifikan seluruh kelompok lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh dari hasil penelitian terdistribusi normal. Data hasil pengukuran nilai MDA isolat monosit juga diuji homogenitas menggunakan Uji *Levene Statistic test* didapatkan hasil lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), dapat diketahui bahwa data dari semua kelompok adalah homogen. Data hasil pengukuran nilai MDA isolat monosit dilakukan uji *One Way Anova*

didapatkan hasil kurang dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok. Uji statistik pada data hasil pengukuran nilai MDA isolat monosit dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference Test*) mendapati bahwa semua hasil memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ). Data rata-rata MDA tiap kelompok disajikan dalam tabel 1. seperti berikut.

**Tabel 1.** Efek ekstrak ampas seduhan bubuk kopi terhadap pembentukan rata-rata nilai malondialdehid (MDA) pada isolat monosit yang distimuli dengan eksotoksin *S.mutans*.

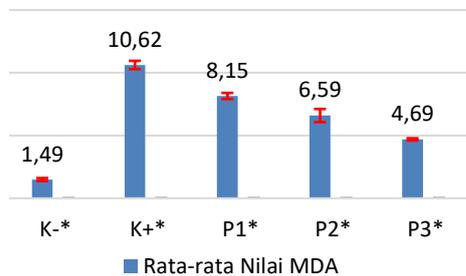
Kelompok Penelitian	n	Kadar MDA (µg/ml) X ± SD
Kontrol Negatif (K-)	3	1,49±0,117 *
Kontrol Positif (K+)	3	10,62±0,329*
Perlakuan 1 (P1)	3	8,15±0,243*
Perlakuan 2 (P2)	3	6,59±0,524*
Perlakuan 3 (P3)	3	4,69±0,089*

X ± SD : Rata-rata kadar MDA isolat monosit ± Nilai Standar Deviasi

n : Jumlah pengulangan perlakuan

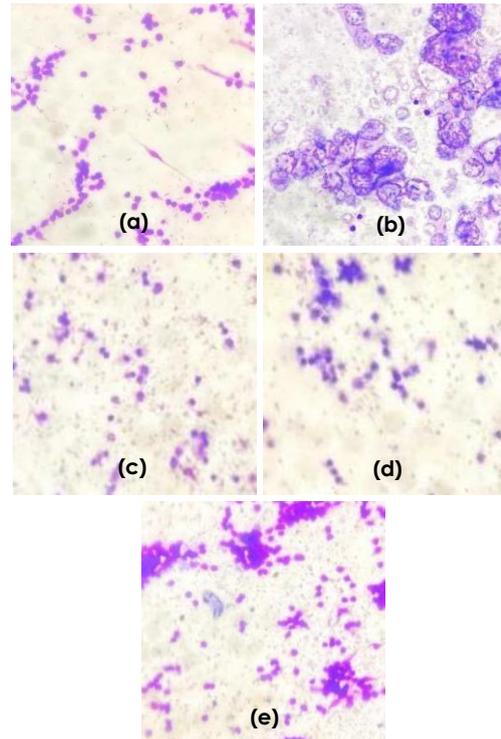
\* : Data memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ )

Tabel rata-rata nilai malondialdehid (MDA) di atas apabila disajikan dalam bentuk histogram terlihat seperti gambar 2. di bawah ini :



**Gambar 2.** Histogram rata-rata nilai MDA isolat monosit ± nilai standar deviasi.

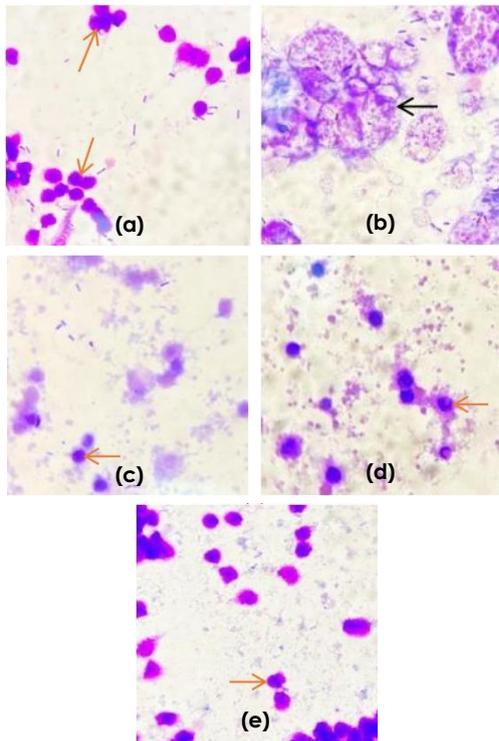
Gambaran mikroskopis isolat monosit pada preparat kelompok kontrol dan perlakuan digunakan sebagai data penunjang dalam populasi yang sama diwarnai menggunakan pewarnaan Giemsa dalam perbesaran 400 kali. Gambaran mikroskopis isolat monosit pada perbesaran ini digunakan untuk melihat perbedaan populasi isolat monosit kelompok kontrol dan perlakuan seperti pada gambar 3. di bawah ini:



**Gambar 3.** Gambaran mikroskopis isolat monosit pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan pewarnaan Giemsa dalam perbesaran 400 kali.

Keterangan: (a) Kontrol Negatif; (b) Kontrol Positif; (c) Perlakuan Satu, (d) Perlakuan Dua, dan (e) Perlakuan Tiga.

Gambaran mikroskopis isolat monosit pada preparat kelompok kontrol dan perlakuan digunakan sebagai data penunjang diwarnai menggunakan pewarnaan Giemsa pada gambar 4. dalam perbesaran 1000 kali. Pewarnaan Giemsa pada gambaran mikroskopis perbesaran ini berfungsi untuk menandai morfologi inti sel dengan sitoplasma dan membran sel. Terlihat gambaran isolat monosit dalam keadaan normal pada kelompok kontrol negatif, perlakuan satu, perlakuan dua, dan perlakuan tiga (panah warna oranye pada gambar 4. a, c, d, dan e). Terlihat gambaran isolat monosit pada kelompok kontrol positif yang dalam kondisi membran sel pecah (panah hitam pada gambar 4.b) seperti berikut :



**Gambar 4.** Gambaran mikroskopis isolat monosit pada kelompok kontrol dan perlakuan dengan pewarnaan Giemsa dalam perbesaran 1000 kali.

Keterangan: (a) Kontrol Negatif; (b) Kontrol Positif; (c) Perlakuan Satu, (d) Perlakuan Dua, (e) Perlakuan Tiga.

Efek ekstrak ampas seduhan bubuk kopi terhadap pembentukan malondialdehid (MDA) pada monosit yang distimuli dengan eksotoksin *S.mutans* memperoleh nilai hasil yang signifikan. Rata-rata nilai MDA pada isolat monosit yang tidak diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dan tidak dipapar dengan eksotoksin *S.mutans* memiliki perbedaan yang signifikan lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata nilai MDA isolat monosit yang diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi namun dipapar dengan eksotoksin *S.mutans*. Sebagai hasil penunjang terlihat pada gambaran mikroskopis isolat monosit yang tidak diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dan tidak dipapar dengan eksotoksin *S.mutans* menunjukkan keadaan isolat monosit yang normal. Hal ini menunjukkan bahwa rendahnya produksi radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan membran sel akibat peroksidasi lipid.

Rata-rata nilai MDA isolat monosit yang tidak diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi namun dipapar dengan eksotoksin *S.mutans* memiliki perbedaan yang signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata nilai MDA isolat monosit yang diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dan dipapar dengan eksotoksin *S.mutans*. Sebagai hasil penunjang terlihat pada gambaran mikroskopis isolat monosit yang tidak diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi namun dipapar dengan eksotoksin *S.mutans* menunjukkan keadaan membran sel yang lisis. Hal ini terjadi akibat tingginya jumlah radikal bebas pada membran sel sehingga terjadi peroksidasi lipid.

Isolat monosit yang diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi dengan berbagai konsentrasi lalu dipapar dengan eksotoksin *S.mutans* memiliki rata-rata nilai MDA yang signifikan lebih rendah dibandingkan rata-rata nilai MDA isolat monosit yang tidak diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi namun dipapar dengan eksotoksin *S.mutans*. Rata-rata nilai MDA berbanding lurus dengan pemberian konsentrasi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi. Rata-rata nilai MDA pada konsentrasi 0,75mg/ml lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata nilai MDA pada konsentrasi 0,50mg/ml dan rata-rata nilai MDA pada konsentrasi 0,50mg/ml lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata nilai MDA pada konsentrasi 0,75mg/ml. Sebagai hasil penunjang, terlihat pada gambaran mikroskopis membran sel isolat monosit yang diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi berbagai konsentrasi dan dipapar eksotoksin *S.mutans* dalam keadaan normal.

## PEMBAHASAN

Efek ekstrak ampas seduhan bubuk kopi terhadap pembentukan malondialdehid (MDA) pada monosit yang distimuli dengan eksotoksin *S.mutans*, dapat dikatakan memiliki pengaruh yang signifikan dalam mengurangi tingkat stress oksidatif yang dihasilkan oleh radikal bebas dari proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan proses di mana radikal bebas berinteraksi dengan *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) membran sel dan lipoprotein plasma. Proses peroksidasi lipid akan meningkat seiring dengan peningkatan produksi radikal bebas pada jaringan (Ayala, 2014).

Reactive Oxygen Species (ROS) pada dinding vaskuler diproduksi secara enzimatik dan nonenzimatik salah satunya oleh sel-sel vaskuler fagositik inflamatorik seperti netrofil dan makrofag, bila teraktivasi akan memproduksi ROS dalam jumlah besar. Produksi ROS yang masif pada lingkungan inflamatorik ini (disebut oxidative burst) berperan penting sebagai mekanisme pertahanan pertama terhadap patogen environmental namun juga dapat bersifat sebagai radikal bebas (Susilawati, 2021). Kenaikan jumlah radikal bebas dan merangsang aktivasi enzim fosfolipase pada membran sel yang akan memecah membran fosfolipid menjadi fosfat, giserol dan asam lemak. Pecahnya molekul pada membran fosfolipid akan mengakibatkan rusaknya sel membran (Andriyono, 2019; Prabowo, 2021).

Penurunan rata-rata nilai MDA pada isolat monosit yang diberi ekstrak ampas seduhan bubuk kopi menunjukkan bahwa kandungan ekstrak ampas seduhan bubuk kopi bekerja sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai peredam radikal bebas yang dapat mengurangi proses peroksidasi lipid sehingga meminimalkan kerusakan pada sel membran monosit. Antioksidan merupakan molekul yang dapat memperlambat atau mencegah reaksi oksidasi dari molekul lain, reaksi oksidasi dapat memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel (Nurman, 2019). Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron sedangkan

pengertian biologis antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas dan ROS (Widowati, 2005).

Ampas seduhan bubuk kopi memiliki kandungan komponen fenolik yaitu asam klorogenat yang berfungsi sebagai antioksidan bagi manusia. Asam klorogenat menunjukkan efek antioksidan dalam membatasi oksidasi lipid PUFAs dan menghilangkan spesies molekul reaktif. Sumber antioksidan dari senyawa polifenol dijelaskan secara kimiawi bahwa polifenol memiliki ketersediaan hidrogen yang didonorkan untuk menangkal kerusakan akibat radikal bebas sehingga dalam konsentrasi rendah dapat menghambat, menangkal, atau mencegah reaksi oksidasi. Radikal bebas terbentuk secara alami dari proses metabolisme sel yang menghasilkan energi namun juga menghasilkan oksigen reaktif sebagai produk sampingan yang disebut ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dan meningkat akibat reaksi metabolisme sel akibat rangsangan dari benda asing yang menginvasi jaringan, dalam hal ini paparan eksotoksin *S.mutans*. Antioksidan alami dari senyawa fenolik dapat melindungi lipid terhadap radikal superoksida (Farhaty, 2016).

Berdasarkan perolehan data dari rata-rata nilai malondialdehid (MDA) yang telah diukur, kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak ampas seduhan bubuk kopi pada bermacam tingkat konsentrasi dapat menghambat produksi MDA pada isolat monosit yang distimuli dengan eksotoksin *S.mutans* sehingga dapat mencegah terjadinya stress oksidatif dan kerusakan sel membran dengan konsentrasi optimal 75% .

#### DAFTAR PUSTAKA

- Andriyono RI. *Kaempferia galanga L. sebagai Anti-Inflamasi dan Analgetik*. Jurnal Kesehatan. 2019;10(3): 495.
- Ayala A, Muñoz M, dan Argüelles S. *Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal*. London : Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Hindawi. 2014.
- Bamji, Michelle, dan Zemin, Yao. *Phospholipase Enzim*. Canada : Department of Biochemistry, Microbiology and Immunology, University of Ottawa. 2017.
- Baratawidjaja, K. *Imunologi Dasar*. Edisi 6. Jakarta : Penerbit FK-UI. 2004.
- Behr G, Moreira JEF, dan Frey B. *Precinical and Clinical Evidence of Antioxidant Effect of Antidepressant a Ent : Implications for the Patolophysiology of Major Depresi Disorder*. India : Hindawi Publising Corporation. 2012.
- Bou Khalil W, Chemie F, dan Rev M. *Bond-Dissociation Energies of Cations*. Canada : WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. 2010.
- Dias RCE dan Benassi MT. *Discrimination between Arabica and Robusta Coffes Using Hydrosulable Compounds Dependents on Roasting Degrees*. Journal of Biology Mediciene. 2015. 23(6) : 57-60.
- Farhaty N. *Tinjauan Kimia dan Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi*. Bandung : Fakultas Farmasi UNPAD. 2016.
- Fatmawati DWA. *Hubungan Biofilm S.mutans Terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi*. Jurnal Stomatognatic Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2011. 8(3) : 127-130.
- Grotto D, Santa ML., Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, Pombum
- VJ, Rocha JBT, dan Farina M. *Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification*. Brazil : Quimica Nova. 2009.
- Jetawattana S. *Malondialdehida (MDA), A Lipid Oxidation Product: Free Radicals In Biology and Medicine*. Journal Biology Mediciene. 2015. 5(2) : 24-28.
- Kurniawati Atik. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ungu (EEDU) Grapthopyllum Pictum L. Griff Terhadap Aktivitas Fagositosis Monosit yang Terpapar Candida Albicans*. Jurnal Kedokteran Gigi DENTA, Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember. 2018. 12(1) : 126-133.
- Limantara J., Dkk. *Penggunaan Ampas Kopi Guna Produk Design Interior*. Jurnal INTRA. 2019. 7(2) : 846-849.
- Lokapitasari WP, dan Yulianto AB. *Gambaran Sel Eosinofil, Monosit, dan Basofil Setelah Pemberian Spirulina pada Ayam yang Diinfeksi Virus Flu Burung*. Jurnal Veteriner Udayana. 2014. 15(4) : 499-505.
- Mangiwa S, dan Yabansabra YR. *Kadar Trigonelin Dalam Biji Kopi Arabika (Coffea Arabica) Asal Wamena, Kabupaten Jayawijaya , Papua*. SAINS: Jurnal MIPA Dan Pengajarannya. 2016. 16(1) : 29-34.
- Miyajima SI, et al. *Periodontitis Activated Monocytes/Macrophages Cause Aortic Inflammation*. Japan : Departement of Periodontology, Faculty of Dentistry, Aichi Gakuin University Nagoya. 2014.
- Mulianto N. *Malondialdehid sebagai Penanda Stres Oksidatif pada Berbagai Penyakit Kulit*. Cermin Dunia Kedokteran. 2020. 47(1) : 39-44.

19. Notoatmodjo S. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi Kedua. Jakarta : PT. Rineka Cipta. 2005.
20. Pokorný J, dan Schmidt Š. *Natural antioxidant functionality during food processing*. Journal of Antioxidants in Food. 2001; 2(1) : 331-332.
21. Singh Z, Kartighesu I, Singh P, dan Kaur R. *Use Malondialdehyd as a Biomarker for Assesing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies*. Journal of Public Health, Dept Zoology, Khalsa College. 2014. 21(3) : 997-1011.
22. Silvia D, Dkk. *Pengumpulan Database Sumber Antioksidan Alternatif Berbasis Pangan Lokal di Indonesia*. Journal of Technology, Surya Octagon Indiciplinary. 2016. 1(2) : 182-192.
23. Susilawati IDA. *Kajian Pustaka: Sumber Reactive Oxygen Species (ROS) Vaskular*. STOMATOGNATIC - Jurnal Kedokteran Gigi;2021;18(1):1. <https://doi.org/10.19184/stoma.v18i1.27959>
24. Soutl L. *Phospholipids in Cell Membranes*. United States, Lexington : Department of Chemistry, University of Kentucky. 2020.
25. Syarah F, Susilawati IDA., Fatimatuzzahro N. *Seduhan Bubuk Kopi Spray Dry Meningkatkan Viabilitas Monosit yang Dipapar Eksotoksis Streptococcus Mutans*. Jurnal Stomatognatic Fakultas Kedokteran Gigi Unej. 2019;16(1) : 16-20.
26. Widowati W, Safitri R, Rumupun, dan R. Siahana M. *Penapisan Aktivitas Superoksida Disorder pada Berbagai Tanaman*. Bandung : Maranatha Journal of Medicine and Health. 2005.
27. Werdhasari A. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Batlitbangkes, Kementrian Kesehatan RI. 2014. 2(3) : 59-68.